植 物 分 类 与 资 源 学 报 2011，33（3）：299～305
Plant Diversity and Resources DOI：10.3724/SP.J.1143.2011.10217

磷脂酶 Dδ 缺失加剧 UV-B 诱导的膜伤害

李 艳[1,2]，田 波[1,3*]，李唯奇[1**]
（1 中国科学院昆明植物研究所，云南 昆明 650204；2 中国科学院研究生院，北京 100049；
3 中国科学院西双版纳热带植物园，云南 昆明 650223）

摘要：检测了拟南芥野生型（WS）及磷脂酶 Dδ 缺失突变体在 UV-B 辐射下的膜脂分子变化，并比较了二者在紫外辐射下的膜脂含量、双键指数及碳链长度的差异。结果发现，紫外辐射导致植株膜脂发生了降解，其中叶绿体膜脂 MGDG 和 DGDG 是膜伤害的主要作用靶点，而且突变体中的膜脂降解比野生型剧烈。上述结果说明磷脂酶 Dδ 的缺失会加剧紫外辐射诱导的膜伤害，导致植株对紫外辐射更加敏感。

关键词：UV-B；磷脂酶 Dδ；膜脂分子；降解；双键指数
中图分类号：Q 945 **文献标识码**：A **文章编号**：2095-0845(2011)03-299-07

Suppression of Phospholipase Dδ Enhances the Membrane Damage Induced by UV-B Irradiation

LI Yan[1,2]，TIAN Bo[1,3*]，LI Wei-Qi[1**]
（1 *Kunming Institute of Botany*，*Chinese Academy of Sciences*，Kunming 650204，China；2 *Graduate University of Chinese Academy of Sciences*，Beijing 100049，China；3 *Xishuangbanna Tropical Botanical Garden*，*Chinese Academy of Sciences*，Kunming 650223，China）

Abstract：The changes of molecular species in membrane lipids under UV-B irradiation in WS and *PLDδ*-knockout plants were profiled with ESI-MS/MS based lipidomics. The content of membrane lipids，double bond index（DBI）and carbon number of the fatty acid were examined in both of them. The results showed that UV-B irradiation induced the degradation of membrane lipids，in which chloroplast membrane lipids such as MGDG and DGDG were the main targets of membrane injury. In addition，the degradation of membrane lipid in *PLDδ*-def was more severe than that in WS plants. The results suggested that suppression of PLDδ enhanced membrane damage induced by UV-B irradiation.
Key words：UV-B；PLDδ；Membrane lipids；Degradation；Double bond index

UV-B 是太阳辐射中 280～320 nm 的中波紫外线，虽然只占太阳辐射的一小部分，但却对生物细胞有着极强的伤害效应：增强 UV-B 使 DNA 分子产生嘧啶二聚体（Jansen 等，1998；Ries 等，2000），破坏氨基酸结构导致蛋白和酶的失活（Prinsze 等，1990）并且抑制蛋白合成（Jordan 等，1994），使膜脂过氧化从而导致膜脂结构和功能的崩解（Mishra 和 Singhal，1992；Murphy 和 Vu，1996）。UV-B 增强还会影响一些生长激素行使功能，如导致 IAA 降解，这已在向日葵幼苗中得到证实（Rose 和 Tevini，1995）。在 UV-B 辐射增强的环境下，许多植物的光合作用受到明显抑制，具体表现为叶绿素、类胡萝卜素含量下降（Strid 等，1990），光合系统反应中心失活，电子传递链功能下降（Noorudeen 和 Kulandaivelu，1982），PSII 核心蛋白 D1，D2 的降解（Bar-

* 与第一作者同等贡献（The author contributed equally to this work）
** 通讯作者：Author for correspondence；E-mail：weiqili@mail.kib.ac.cn；Tel：0871-5223025
收稿日期：2010-11-29，2010-12-29 接受发表
作者简介：李艳（1985-）女，在读硕士研究生，主要从事植物逆境生理学研究。

bato 等，2000)，Rubisco 羧化活性降低 (Jordan 等，1992)。UV-B 除了对这些重要的大分子有显著影响外，也会改变植物的个体形态。前期的野外及室内实验发现 UV-B 辐射增强会使受试作物出现矮化，叶面积减小、叶片厚度增加等现象(Teramura，1983；Cen 和 Bornman，1993)。增强 UV-B 辐射还会导致植物器官生长不均匀，叶解剖特征发生改变 (Barsig 和 Malz，2000)。紫外辐射对植物的影响是一个多层次、多因素的复杂过程。

细胞膜主要由脂质和蛋白组成，被认为是 UV-B 辐射伤害的主要作用靶位 (Murphy，1983)。植物膜脂主要是磷脂、糖脂、硫脂和固醇等，其中磷脂和糖脂是膜脂的主要成分。植物细胞膜中的磷脂主要是磷酸甘油二酯，包括磷脂酰胆碱 (phosphatidylcholine，PC)、磷脂酰乙醇胺 (phosphatidylethanolamine，PE)、磷脂酰甘油 (phosphatidylglycerol，PG)、磷脂酰丝氨酸 (phosphatidylserine，PS) 及磷脂酰肌醇 (phosphatidylinositol，PI)。糖脂主要是单半乳糖二酰甘油 (monogalactosyldiacylglycerol，MGDG) 及双半乳糖二酰甘油 (digalactosyldiacylglycerol，DGDG)。一些研究者提出 UV-B 诱导的光合作用受抑制是由叶绿体膜结构的瓦解导致的 (Mantai 等，1970；Brandle 等，1977)。目前关于辐射对细胞膜系统的影响报道主要集中在膜系统组成变化、脂质过氧化及活性氧代谢方面等 (Wang 等，2010；Predieri 等，1995；Dai 等，1997)。UV-B 能够诱使超氧阴离子、过氧化氢等自由基的产生，使膜脂过氧化，导致膜结构变化，从而改变膜透性 (Murphy 等，1990)，同时会抑制超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 等的活性，使细胞清除活性氧的能力下降，从而加剧膜脂的过氧化反应。除此之外，UV-B 辐射还能改变膜脂质组成。温室种植的小麦经紫外线 B 照射后膜脂肪酸分配比发生改变，不饱和度指数 (IUFA) 下降，膜的流动性降低以及丙二醛含量升高 (杨景宏等，2000)。增强 UV-B 辐射还会导致单半乳糖基二酰甘油 (MGDG) 含量下降，但对二半乳糖基二酰甘油 (DGDG) 没有影响，表明作为叶绿体膜主要组成成分的 MGDG 可能是 UV-B 辐射的作用靶分子 (Predieri 等，1995)。综合前人的研究发现，UV-B 对膜系统的影响研究主要集中在膜脂过氧化，虽然也涉及到膜脂组成但不够系统，因此植物响应紫外胁迫过程中膜脂分子的变化规律尚未可知。

磷脂酶 D (phospholipase D，PLD) 是水解磷脂的关键酶，产物是水溶性的头基团和磷脂酸。植物磷脂酶由复杂的基因家族编码，根据生化性质和序列不同可将 PLD 分为 PLDα、β、γ、δ、ε 和 ζ (Wang，2000)。近年来磷脂酶 Dδ 被认为参与到多种细胞反应过程中。研究表明 PLDδ 可被油酸激活而且其在衰老组织中表达量高于幼嫩组织 (Wang 和 Wang，2001)。在高盐及脱水等逆境条件下 PLDδ 表达量都会增加 (Katagiri 等，2001)。根据这些特性推测 PLDδ 可能与植物的抗性相关。事实上很多研究也证明了这点。如 Li 等 (2004) 发现 PLDδ 敲除突变体对冷害更为敏感，而 PLDδ 过表达可以增强植物的抗冷能力。除此之外 PLDδ 还与植物的氧化胁迫相关，可被活性氧 H_2O_2 激活并增强对 H_2O_2 诱导的细胞死亡抗性，PLDδ 缺失突变体对 H_2O_2 诱导的细胞死亡更加敏感 (Zhang 等，2003)。可以看出 PLDδ 在对抗高盐、脱水、冷害、过氧化诱导细胞死亡方面有着很重要的作用，但是 PLDδ 是否以及如何在细胞响应紫外辐射代谢过程中起作用尚未可知。

本实验以模式植物拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 的野生型及 PLDδ 缺失突变体为研究对象，采用电喷离子化串联质谱方法 (ESI-MS/MS，electrospray ionization tandem mass spectrometry)，精确检测不同辐射时间下 150 多种膜脂分子含量，得出膜脂分子的系统变化规律。比较了野生型及 PLDδ 缺失突变体的脂分子变化差异，发现 PLDδ 在细胞响应紫外辐射中也起到积极的作用。

1 材料与方法

1.1 材料与处理

实验材料为土培法培养的野生型 (Wassilewskija ecotype，WS) 拟南芥及 PLDδ 的 T-DNA 插入缺失型突变体 (Phospholipase Dδ-deficient，PLDδ-def) (Zhang 等，2003)。土壤吸水一天后，将种子均匀散布在土壤表面，转移至温室培养，日温 22℃，夜温 19℃，光强 120 μmol·m^{-2}·s^{-1}，光周期为 12 h，湿度 45% ~50%。种植约 4 周后用于

UV-B 处理，辐射强度为 8 μw·cm^{-2}。紫外灯管发射的紫外线经 0.08 mm 乙酰纤维素膜过滤后照射植物以消除紫外线 C 对植物产生的干扰。

1.2　膜脂提取及测定

膜脂提取方法参考 Welti 等（2002）略作改进，每个处理 5 个重复。取适量叶片立即放入 3 mL 75℃（预热）的异丙醇（含 0.01% BHT）中 15 min，加入 1.5 mL 氯仿、0.6 mL 蒸馏水，室温摇床震荡 1 h 后转移提取液。向提取液中再加 4 mL 氯仿甲醇混合液（氯仿：甲醇=2：1 含 0.01% BHT）置摇床过夜震荡直到叶片发白，分别用 1 mL 氯仿甲醇溶液清洗叶片两次，以保证脂类转移充分。合并提取液后加入 1 mL 1 mol·L^{-1} KCl 摇动静置分层，弃去上清，再加 2 mL 蒸馏水分层弃上清。下层液经氮气浓缩干燥，溶于 1 mL 氯仿待测。提取残渣在 105℃ 烘箱过夜烘干，称干重。采用电喷雾离子化串联质谱联用技术（ESI-MS/MS）检测各脂类分子含量，数据分析方法参考 Welti 等（2002）。

1.3　数据分析

使用 *Q*-test 剔除 5 个重复中的异常值，在 Microsoft Excel 2003 计算平均值与标准差，作图软件使用 Origin-Pro7.0。*T*-test 比较两组处理在 $P<0.05$ 水平上的差异显著性并标注于图表中。

2　结果

2.1　UV-B 辐射导致拟南芥膜脂降解，PLDδ 缺失突变体中降解比野生型剧烈

我们检测了紫外辐照 0，2，4 和 8 h 下拟南芥野生型和 PLDδ 缺失突变体的 11 类约 150 多种脂类分子含量，计算了总脂含量的相对变化。紫外辐射下两种基因型的拟南芥总膜脂含量都呈显著下降趋势（表 1），其中野生型在 2 h 的辐射时间内膜脂含量降低最明显，随着辐射时间延长至 4 h，膜脂含量反而有所升高。最终辐射 8 h 后，野生型的总脂只降低了 23%，而突变体降低了 72%。这些数据表明紫外辐照会导致拟南芥膜脂发生降解，而且缺失磷脂酶 δ 的突变体膜脂降解的更严重。

表 1　紫外辐射在两种基因型的拟南芥中诱导总脂含量的相对变化

Table 1　Relative changes of total lipid under UV-B irradiation in WS and PLDδ-def plants

Genotypes	Relative changes of total lipids（%）			
	Control	2 h	4 h	8 h
WS	100	54.4±21.5*	89.7±24.9	77.3±31.5
PLDδ-def	100	60.4±37.8	43±18.4*	28.2±7.5*

数值为平均值±标准差（n=4 或 5）。* 表示该值与对照有显著差异（$P<0.05$）

Values are means ±S. D.（n=4 or 5）. "*" indicates that the value is different from that of control（$P<0.05$）

2.2　叶绿体膜脂 MGDG 和 DGDG 是 UV-B 辐射对膜伤害的主要作用靶点

植物的膜脂主要甘油脂组成，包括了糖脂和磷脂。组成叶绿体的膜脂主要是糖脂 MGDG，DGDG 和磷脂 PG（Welti 等，2002）。叶绿体是对紫外辐照较为敏感的细胞器（Strid 等，1994）。野生型拟南芥在辐射 2 h 后，DGDG 和 MGDG 含量开始下降，在整个检测过程中 DGDG 含量降低了 20%，MGDG 含量降低了 24%。PLDδ-def 突变体中，DGDG 含量降低了 71%，MGDG 含量降低了 74%。辐照过程中，PG 在野生型中没有发生显著变化，而在 PLDδ-def 植株中出现了显著下降（表 2）。上述数据说明紫外辐照对叶绿体产生了伤害，导致叶绿体膜脂发生降解，缺失磷脂酶 Dδ 使得这个降解加剧，其中糖脂 DGDG 和 MGDG 对紫外辐射敏感，而磷脂 PG 不敏感。

2.3　紫外辐照诱导野生型植株 PA 含量升高，而 PLDδ 缺失突变体中 PA 没有升高

PA 是磷脂酶 D 催化水解磷脂的产物。在拟南芥中，磷脂酶 D 家族有 13 个成员（Wang 等，2000），不同的 PLD 可能参与不同生理响应。我们发现在野生型植株中，紫外辐照诱导 PA 升高了 3 倍，但是在 PLDδ 缺失突变体中，PA 没有升高（图 1；表 2）。这说明紫外辐照诱导的 PA 升高可能主要来自磷脂酶 Dδ 介导的磷脂水解，暗示磷脂酶 Dδ 参与拟南芥响应紫外辐射的过程。

2.4　在野生型中，紫外辐照诱导的质外体主要膜脂含量有降低后回升的过程，而 PLDδ-def 突变体中膜脂含量持续下降

植物的质外体膜脂主要包括 PC、PE、PI 等，其中以 PC、PE 含量最高，占总磷脂的 75% 以上（Harwood 等，1998）。野生型拟南芥在辐射 2 h 后 PC、PE、PI 含量下降，而在辐射 4 h 后这些脂分子含量又显著升高，达到与对照一致的水平。整个检测过程中 PC 含量降低了 47%、PE 降低了 41%、PI 降低了 59%（表 2）。

PLDδ 缺失突变体在 UV-B 辐射下，PC、PE、PI 含量在整个检测过程中持续下降，没有出现 4 h

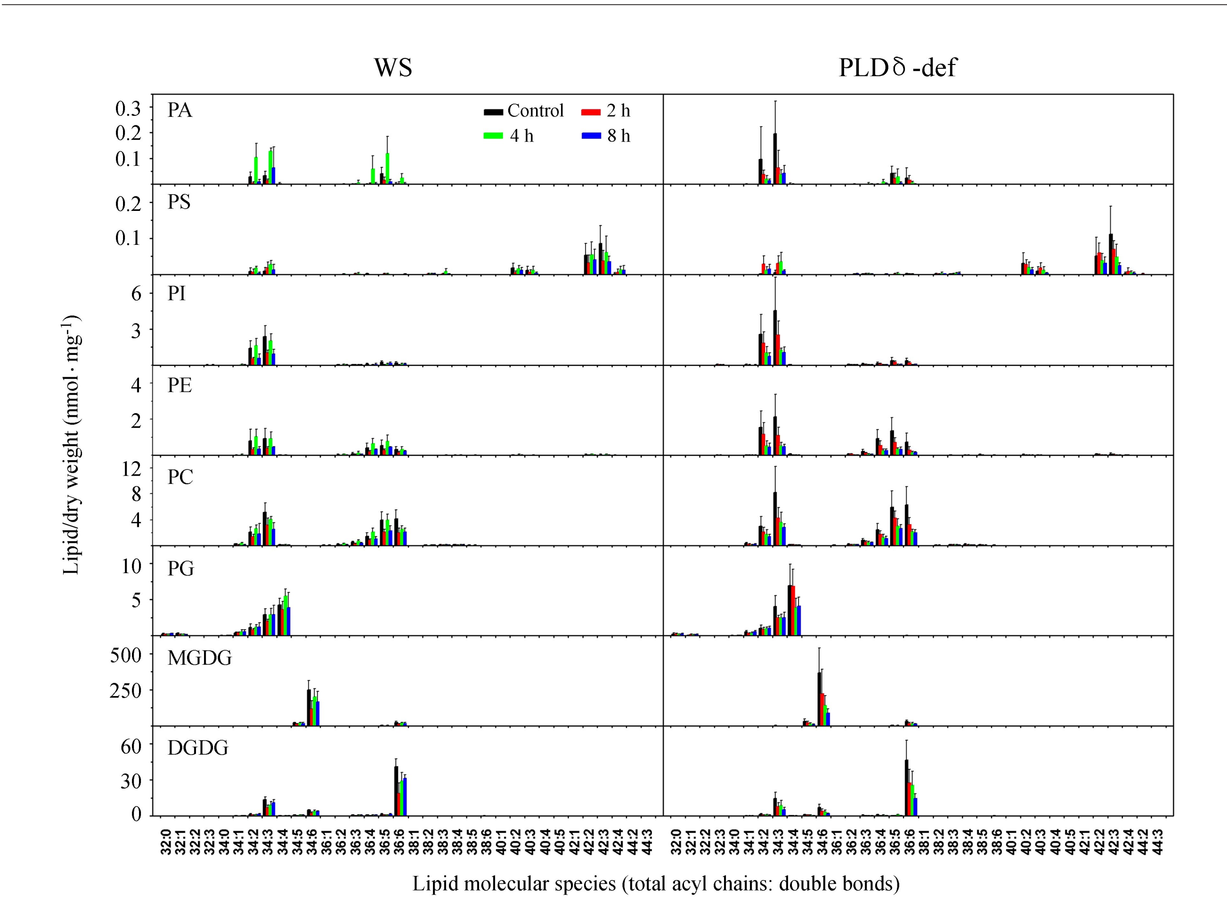


图 1 紫外辐射诱导的拟南芥膜脂分子变化。数值为平均值±标准差（n=4 或 5）

Fig. 1 Changes of lipid molecular species under UV-B irradiation in WS and PLDδ-def plants. Values are means±S. D. （n=4 or 5）

表 2 紫外辐射诱导的脂类含量相对变化

Table 2 Relative changes of lipid classes under UV-B irradiation in WS and PLDδ-def plants

Lipid classes	Genotypes	Relative changes of lipid classes (%)			
		Control	2 h	4 h	8 h
DGDG	WS	100	46.9 ± 20[a]	69.6 ± 18.2[a]	79.6 ± 3.9[a]
	PLDδ-def	100	51.3 ± 20.9[a]	50.4 ± 22.5[a]	29 ± 7.9[a]
MGDG	WS	100	54.3 ± 23.6[a]	90.6 ± 26.6	75.6 ± 32.7
	PLDδ-def	100	60.1 ± 43.3	40.2 ± 18.7[a]	25.7 ± 8.7[a]
PG	WS	100	67.8 ± 14	99.5 ± 19.8[b]	84 ± 39.8
	PLDδ-def	100	88.3 ± 26.2	62.6 ± 13.2[a]	67.7 ± 15.5[a]
PC	WS	100	55.1 ± 13.7[a]	92.7 ± 19[b]	53.5 ± 19.9[a]
	PLDδ-def	100	59.8 ± 17.5	47.3 ± 18.1[a]	38.8 ± 7.2[a]
PE	WS	100	43.3 ± 12.8	125.3 ± 55.7[b]	58.9 ± 8.4
	PLDδ-def	100	57.2 ± 26.3	26.3 ± 10.8[ab]	24.6 ± 9.2[a]
PI	WS	100	38.7 ± 5.1[a]	94.1 ± 31.4[b]	41 ± 19[a]
	PLDδ-def	100	60.1 ± 28.2	27.2 ± 6[a]	25.1 ± 9.7[a]
PS	WS	100	57.9 ± 41.4	101.9 ± 51	46 ± 20.6
	PLDδ-def	100	102.6 ± 26.6	90.4 ± 23	36.4 ± 8.7[a]
PA	WS	100	38.6 ± 29.2	303.2 ± 134.4[b]	18 ± 5
	PLDδ-def	100	40 ± 33.7	22.3 ± 13	18.9 ± 11.2

数值为平均值±标准差（n=4 或 5）。a 表示该值与对照差异显著（P<0.05），b 表示该值与辐射 2 h 差异显著（P<0.05）

Values are means ±S. D. （n=4 or 5）. “a” indicates that the value is different from that of control（P<0.05）, “b” indicates that the value is different from that of 2 h

恢复的现象。最终辐射 8 h 后 PC 含量降低了 61%、PE 降低了 75%、PI 降低了 75%。这些证据说明，缺失磷脂酶 Dδ 导致紫外辐照诱导质外体膜脂降解加剧，进一步暗示 PLDδ 在植物响应辐照胁迫起正作用。

2.5　紫外辐射导致膜脂双键指数的变化

细胞膜脂的流动性变化是植物响应环境变化的主要策略之一。植物主要通过调节膜脂脂肪酸链双键数目来改变流动性。双键数目增多，膜脂流动性提高；双键数目减少，流动性降低。我们通过膜脂分子的含量计算了膜脂的平均双键数 DBI（double bond index）（Quartacci 等，2001），结果表明野生型的 MGDG、PC、PI 的双键数目在紫外辐照下显著减少。PLDδ 缺失突变体中的 MGDG 和 PI 也呈下降趋势（表 3），其它脂类分子的双键指数保持不变。双键指数反映的是脂肪酸的不饱和度，从数据中可以看出紫外辐射降低了膜脂的不饱和度，降低了膜脂流动性，这与之前的研究结果一致（An 等，2000）。但由于辐射时间短，多数膜脂分子的双键数目没有发生显著改变。

2.6　紫外辐射导致膜脂分子碳链的变化

除了膜脂不饱和度之外，脂肪酸的碳链长度也是膜脂流动性的决定因素。为此我们计算了两种基因型的拟南芥在紫外辐射下脂肪酸的平均碳链长度。结果显示野生型植株内，占膜脂总量最多的 DGDG 与 MGDG 碳链长度都没有发生显著变化（表 4），而突变体中 MGDG 碳链长度显著增长。其它含量较少的膜脂分子碳链长度呈下降趋势或呈现波动。

3　讨论

我们的实验结果证实了紫外辐射会导致膜脂（包括糖脂和磷脂）降解。MGDG 及 DGDG 是叶绿体中含量最多，也是降解最严重的膜脂分子。紫外辐射导致植物光合能力下降很可能与这两种脂分子的降解相关。辐射下 DGDG 的含量变化与 MGDG 类似，该结果与 Predieri（1995）的报道不同，他的数据显示 UV-B 辐射不会降低矮生西洋梨（*Pyrus communis* L.）中的 DGDG 含量。这种差异可能是植物材料不同所致。

我们通过比较两种基因型的拟南芥在紫外辐射下的脂类变化发现，虽然二者脂类含量都呈下降趋势，但变化模式不同。野生型拟南芥膜脂分子含量在辐射 4 h 后有短暂的回升，而 PLDδ 缺失突变体膜脂分子含量持续下降，没有出现伤害

表 3　紫外辐射诱导的脂类双键指数变化

Table 3　Changes of double bond index (DBI) in lipid classes under UV-B irradiation

Lipid classes	Genotypes	Relative changes of lipid classes (%)			
		Control	2 h	4 h	8 h
DGDG	WS	5.15 ± 0.07	5.10 ± 0.11	5.17 ± 0.05	5.02 ± 0.12
	PLDδ-def	5.22 ± 0.08	5.26 ± 0.09	5.15 ± 0.13	5.12 ± 0.15
MGDG	WS	5.90 ± 0.01	5.89 ± 0.01	5.89 ± 0.01	5.87 ± 0.01 *
	PLDδ-def	5.90 ± 0.01	5.90 ± 0.01	5.89 ± 0.02	5.88 ± 0.00 *
PG	WS	3.15 ± 0.18	3.14 ± 0.11	3.19 ± 0.08	3.00 ± 0.09
	PLDδ-def	3.28 ± 0.07	3.34 ± 0.10	3.13 ± 0.17	3.07 ± 0.21
PC	WS	4.06 ± 0.11	3.92 ± 0.10	3.84 ± 0.01 *	4.05 ± 0.17
	PLDδ-def	4.07 ± 0.07	4.05 ± 0.15	3.98 ± 0.07	3.97 ± 0.09
PE	WS	3.62 ± 0.27	3.60 ± 0.17	3.46 ± 0.05	3.73 ± 0.24
	PLDδ-def	3.58 ± 0.11	3.41 ± 0.17	3.55 ± 0.31	3.52 ± 0.23
PI	WS	2.95 ± 0.05	2.79 ± 0.07 *	2.72 ± 0.02 *	2.90 ± 0.07
	PLDδ-def	2.94 ± 0.05	2.87 ± 0.05	2.76 ± 0.07 *	2.84 ± 0.03 *
PS	WS	2.65 ± 0.11	2.61 ± 0.26	2.65 ± 0.09	2.62 ± 0.10
	PLDδ-def	2.73 ± 0.15	2.57 ± 0.11	2.57 ± 0.25	2.56 ± 0.11
PA	WS	3.63 ± 0.25	3.59 ± 0.53	3.58 ± 0.18	3.45 ± 0.88
	PLDδ-def	3.25 ± 0.32	3.52 ± 0.19	3.51 ± 0.13	3.27 ± 0.29

数值为平均值±标准差（n=4 或 5）。* 表示该值与对照有显著差异（P<0.05）

Values are means ±S. D. (n=4 or 5). "*" indicates that the value is different from that of control (P<0.05)

表4 紫外辐射诱导的脂分子平均碳链长度变化

Table 4 Changes of average carbon number of fatty acids in lipid classes under UV-B irradiation in WS and PLDδ-def plants

Lipid classes	Genotypes	Relative changes of lipid classes (%)			
		Control	2 h	4 h	8 h
DGDG	WS	35.34 ± 0.03	35.29 ± 0.13	35.35 ± 0.02	35.29 ± 0.05
	PLDδ-def	35.33 ± 0.06	35.37 ± 0.04	35.32 ± 0.05	35.31 ± 0.11
MGDG	WS	34.19 ± 0.04	34.22 ± 0.03	34.18 ± 0.01	34.20 ± 0.04
	PLDδ-def	34.16 ± 0.02	34.18 ± 0.06	34.21 ± 0.06	34.24 ± 0.03 *
PG	WS	33.89 ± 0.05	33.91 ± 0.02	33.92 ± 0.02	33.91 ± 0.02
	PLDδ-def	33.95 ± 0.00	33.92 ± 0.02 *	33.92 ± 0.02 *	33.90 ± 0.04 *
PC	WS	35.22 ± 0.03	35.12 ± 0.06 *	35.20 ± 0.06	35.27 ± 0.07
	PLDδ-def	35.22 ± 0.06	35.26 ± 0.09	35.20 ± 0.08	35.23 ± 0.09
PE	WS	35.11 ± 0.07	35.14 ± 0.09	35.25 ± 0.07 *	35.31 ± 0.06 *
	PLDδ-def	35.16 ± 0.04	35.08 ± 0.03 *	35.12 ± 0.07	35.16 ± 0.06
PI	WS	34.27 ± 0.03	34.14 ± 0.04 *	34.19 ± 0.05 *	34.27 ± 0.02
	PLDδ-def	34.26 ± 0.06	34.24 ± 0.02	34.14 ± 0.02 *	34.24 ± 0.04
PS	WS	40.80 ± 0.78	39.97 ± 1.17	39.74 ± 0.15 *	40.64 ± 0.60
	PLDδ-def	40.92 ± 0.73	39.48 ± 0.39 *	39.29 ± 0.08 *	39.57 ± 0.78 *
PA	WS	34.73 ± 0.28	34.77 ± 0.42	34.93 ± 0.15	34.69 ± 0.62
	PLDδ-def	34.44 ± 0.21	34.54 ± 0.31	34.71 ± 0.21	34.48 ± 0.23

数值为平均值±标准差（n=4 或 5）。* 表示该值与对照有显著差异(P<0.05)

Values are means ±S. D. (n=4 or 5). "*" indicates that the value is different from that of control (P<0.05)

恢复的现象。推测野生型植株辐射 4 h 脂分子含量上升可能是由于植物体内存在一种适应恢复机制，通过不断合成新的脂分子补充短时间 UV-B 辐射造成的损失，突变体植株丧失这种功能导致脂分子含量的持续降低。所以我们认为 PLDδ 敲除会加剧紫外辐射诱导的膜伤害，即 PLDδ 在紫外诱导的膜脂降解过程中起到正作用。此前有研究发现 PLDδ 缺失突变体对过氧化氢诱导的氧化胁迫更加敏感（Zhang 等，2003），所以我们推测 PLDδ 在植物响应氧化胁迫过程中起到非常重要的作用。

植物膜脂双键数目及脂肪酸碳链长度被认为是影响膜流动性的主要因素。在本实验中两种基因型的拟南芥在紫外照射下大部分脂分子的双键指数和碳链长度并没发生显著性改变，可能是由于双键的积累与碳链的增长是一个缓慢的过程，而我们的处理时间最长是 8 h，不足以产生显著变化。

〔参 考 文 献〕

An LZ, Feng HY, Tang XD *et al.*, 2000. Changes of microsomal membrane properties in spring wheat leaves (*Triticum aestivum* L.) exposed to enhanced ultraviolet-B radiation [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **57**: 60—65

Barbato R, Bergo E, Szabo I *et al.*, 2000. Ultraviolet B exposure of whole leaves of barley affects structure and functional organization of photosystem Ⅱ [J]. *Journal of Biological Chemistry*, **275**: 10976—10982

Barsig M, Malz R, 2000. Fine structure, carbohydrates and photosynthetic pigments of sugar maize leaves under UV-B radiation [J]. *Environmental and Experimental Botany*, **43**: 121—130

Brandle JR, Campbell WF, Sisson WB *et al.*, 1977. Net photosynthesis, electron transport capacity, and ultrastructure of *Pisum sativum* L. exposed to ultraviolet-B radiation [J]. *Plant Physiology*, **60**: 165—169

Cen YP, Bornman JF, 1993. The effect of exposure to enhanced UV-B radiation on the penetration of monochromatic and polychromatic UV-B radiation in leaves of *Brassica napus* [J]. *Physiologia Plantarum*, **87**: 249—255

Dai QJ, Yan B, Huang SB *et al.*, 1997. Response of oxidative stress defense systems in rice (*Oryza sativa*) leaves with supplemental UV-B radiation [J]. *Physiologia Plantarum*, **101**: 301—308

Harwood JL, 1998. *Plant Lipid Biosynthesis: Fundamentals and Agricultural Applications* [M]. University of Wales College of Cardiff: Cambridge University Press, 7—8

Jansen MAK, Gaba V, Greenberg BM, 1998. Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation [J]. *Trends in Plant Science*, **3**: 131—135

Jordan BR, He J, Chow WS *et al.*, 1992. Changes in mRNA levels and polypeptide subunits of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase in response to supplementary ultraviolet-B radiation [J]. *Plant*,

Cell & Environment, **15**: 91—98

Jordan BR, James PE, Strid Å *et al.*, 1994. The effect of ultraviolet-B radiation on gene expression and pigment composition in etiolated and green pea leaf tissue: UV-B-induced changes are gene-specific and dependent upon the developmental stage [J]. *Plant*, *Cell & Environment*, **17**: 45—54

Katagiri T, Takahashi S, Shinozaki K, 2001. Involvement of a novel Arabidopsis phospholipase D, AtPLDδ, in dehydration-inducible accumulation of phosphatidic acid in stress signaling [J]. *The Plant Journal*, **26**: 595—605

Li WQ, Li MY, Zhang WH *et al.*, 2004. The plasma membrane-bound phospholipase D delta enhances freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Nature Biotechnology*, **22**: 427—433

Mantai KE, Wong J, Bishop NI, 1970. Comparison studies on the effects of ultraviolet irradiation on photosynthesis [J]. *Biochimica et Biophysica Acta* (*BBA*)*-Bioenergetics*, **197**: 257—266

Mishra RK, Singhal GS, 1992. Function of photosynthetic apparatus of intact wheat leaves under high light and heat stress and its relationship with peroxidation of thylakoid lipids [J]. *Plant Physiology*, **98**: 1—6

Murphy TM, 1983. Membranes as targets of ultraviolet radiation [J]. *Physiologia Plantarum*, **58**: 381—388

Murphy TM, 1990. Effect of broad-band ultraviolet and visible radiation on hydrogen peroxide formation by cultured rose cells [J]. *Physiologia Plantarum*, **80**: 63—68

Murphy TM, Vu H, 1996. Photoinactivation of superoxide synthases of the plasma membrane from rose (*Rosa damascena* Mill.) cells [J]. *Photochemistry and Photobiology*, **64**: 106—109

Noorudeen AM, Kulandaivelu G, 1982. On the possible site of inhibition of photosynthetic electron transport by ultraviolet-B (UV-B) radiation [J]. *Physiologia Plantarum*, **55**: 161—166

Predieri S, Norman HA, Krizek DT *et al.*, 1995. Influence of UV-B radiation on membrane lipid composition and ethylene evolution in 'Doyenne d'Hiver' pear shoots grown in vitro under different photosynthetic photon fluxes [J]. *Environmental and Experimental Botany*, **35**: 151—160

Prinsze C, Dubbelman TMAR, Van Steveninck J, 1990. Protein damage, induced by small amounts of photodynamically generated singlet oxygen or hydroxyl radicals [J]. *Biochimica et Biophysica Acta* (*BBA*)*-Protein Structure and Molecular Enzymology*, **1038**: 152—157

Quartacci MF, Cosi E, Navari-Izzo F, 2001. Lipids and NADPH-dependent superoxide production in plasma membrane vesicles from roots of wheat grown under copper deficiency or excess [J]. *Journal of Experimental Botany*, **52**: 77—84

Ries G, Heller W, Puchta H *et al.*, 2000. Elevated UV-B radiation reduces genome stability in plants [J]. *Nature*, **406**: 98—101

Rose J, Tevini M, 1995. Interaction of UV radiation and IAA during growth of seedlings and hypocotyl segments of sunflower [J]. *Plant Physiology*, **146**: 295—302

Strid Å, Chow WS, Anderson JM, 1994. UV-B damage and protection at the molecular level in plants [J]. *Photosynthesis Research*, **39**: 475—489

Strid Å, Chow WS, Anderson JM, 1990. Effects of supplementary ultraviolet-B radiation on photosynthesis in *Pisum sativum* [J]. *Biochimica et Biophysica Acta* (*BBA*)*-Bioenergetics*, **1020**: 260—268

Teramura AH, 1983. Effects of ultraviolet-B radiation on the growth and yield of crop plants [J]. *Physiologia Plantarum*, **58**: 415—427

WangCX, Wang XM, 2001. A novel phospholipase D of *Arabidopsis* that is activated by oleic acid and associated with the plasma membrane [J]. *Plant Physiology*, **127**: 1102—1112

Wang SW, Xie BT, Yin LN *et al.*, 2010. Increased UV-B radiation affects the viability, reactive oxygen species accumulation and antioxidant enzyme activities in maize (*Zea mays* L.) pollen [J]. *Photochemistry and Photobiology*, **86**: 110—116

Wang XM, 2000. Multiple forms of phospholipase D in plants: the gene family, catalytic and regulatory properties, and cellular functions [J]. *Progress in Lipid Research*, **39**: 109—149

Welti R, Li WQ, Li MY *et al.*, 2002. Profiling membrane lipids in plant stress responses [J]. *Journal of Biological Chemistry*, **277**: 31994—32002

Yang JH (杨景宏), Chen T (陈拓), Wang XL (王勋陵), 2000. The influence of enhanced ultraviolet-B radiation on chloroplast membrane composition and membrane fluidity in wheat leaves [J]. *Acta Phytoecologica Sinica* (植物生态学报), **24** (1): 102—105

Zhang WH, Wang CX, Qin CB *et al.*, 2003. The Oleate-stimulated phospholipase D, PLDδ, and phosphatidic acid decrease H_2O_2-induced cell death in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, **15**: 2285—2295